

Aus der Konservierenden Abteilung
(Leiter: Prof. Dr. Dr. W. Ketterl)
der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
(Direktor: Prof. Dr. F. Jung)
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

DIE WIRKUNG VERSCHIEDENER ZAHNREINIGUNGSMITTEL BEI STANDARDISIRTER KOST IM TIEREXPERIMENT

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
GERHARD MÜHLEBACH
Zahnarzt aus Sigmaringen

Mainz 1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554812_0038

Aus der Konservierenden Abteilung

(Leiter: Prof. Dr. Dr. W. Ketterl)

der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten

(Direktor: Prof. Dr. F. Jung)

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

DIE WIRKUNG VERSCHIEDENER ZAHNREINIGUNGSMITTEL BEI STANDARDISierter KOST IM TIEREXPERIMENT

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

GERHARD MÜHLEBACH

Zahnarzt aus Sigmaringen

Dekan:	Prof. Dr. Borneff
Referent:	Prof. Dr. Dr. P. Rieth
Korreferent:	Prof. Dr. Dr. W. Ketterl

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Dezember 1966

MEINEN ELTERN



INHALTSÜBERSICHT

	Seite
I. Die Art des Tierversuches	1
II. Zur Planung eines Tierexperimentes für das Kariesgeschehen	2
1. Art der Versuchstiere	2
2. Versuchsdauer	3
3. Auswertungsarten	4
4. Besonderheiten der im Versuch verwendeten Tiere	5
a) Anatomie der Zähne	5
b) Zusammensetzung des Schmelzes	9
c) Prädispositionsstellen für die Karies bei der Ratte	9
I. Versuchsanordnung	10
1. Voraussetzungen für einen Blindversuch.	10
2. Standardisierungsmöglichkeiten	12
a) Zuchtraum	12
b) Zuchtstamm	13
c) Käfigklima	14
3. Gruppeneinteilung	15
4. Putzmethode	16
a) Auswahl der Bürste	16
b) Art des Bürstens	18
c) Putzzeit	20
5. Futterzusammensetzung	22
6. Fütterungsmodus	23
7. Wiegen der Tiere	24

IV. Auswertung	24
1. Herstellen der Schliffe	25
2. Färbmethode	26
3. Herstellen der Präparate	27
4. Diagnostiziermodus	27
a) Einteilung der Kariesläsionen	27
b) Auswertungsmodus der Untersucher .	29
V. Kurze enzym-chemische Übersicht zu der Amylase enthaltenden Paste	31
1. Erläuterung des Begriffes Enzym	31
2. Enzyme als kariesprophylaktische Mit- tel	32
3. Einflüsse auf die Enzymaktivität	33
4. Wirkungsweise der Amylase	34
VI. Zur allgemeinen Verwertbarkeit der aufge- zeigten Versuchsdurchführung - Vergleich der Pasten	36
VII. Ergebnisse	41
1. Zahlenmäßige Erfassung der Karies- läsionen	41
2. Zur mathematisch-statistischen Aus- wertungsmethode	47
3. Graphische Darstellung des Kariesbe- falles der einzelnen Gruppen	55
4. Standardabweichung des Mittelwertes	57
VIII. Diskussion	58
IX. Zusammenfassung	61
X. Literaturangaben	63

I. Die Art des Tierversuches

In der vorliegenden Studie soll an Hand eines kurzfristigen Tierexperimentes mit Jungratten eine neue Möglichkeit aufgezeigt werden, die Mundtoilette des Menschen im Tierversuch nachzuahmen. Es soll eine an Jungratten durchgeführte Zahnputzmethode dargelegt und auf ihre weitere Verwendbarkeit untersucht werden. Es soll gezeigt werden, wie sich das Putzen der Rattenmolaren auf das Kariesgeschehen dieser Tiere bemerkbar macht. Es wurden deshalb verschiedene Tiergruppen gebildet, wobei den Tieren von zwei Gruppen die Zähne mit Paste, den Tieren der dritten Gruppe mit Aqua destillata und den Tieren der vierten Gruppe die Zähne nicht geputzt wurden. Das Experiment ist als Grundlagenversuch gedacht, um auftretende, aber in späteren Versuchen dieser Art vermeidbare Fehler ausschalten zu können.

II. Zur Planung eines Tierexperimentes

Bei der Planung eines Tierversuches drängt sich die Frage auf, welche Tiere zur Durchführung des Versuches gewählt werden sollen. Entscheidend ist hierbei, zu berücksichtigen, für welchen Zweck der Versuch durchgeführt werden soll. Zur Erforschung der Karies, wie es hier der Fall ist, muß eine gewisse Beziehung und Vergleichsmöglichkeit der Tierkaries zu der beim Menschen vorhanden sein. Vielfach wurden kariesexperimentelle Tierversuche an Anthropoiden unternommen. Es ist auch einleuchtend, daß diese Tiere durch ihre Stellung als Primanten in Bezug auf Karies durchaus dem Menschen nahe kommen können und daß diese Tiere somit brauchbare Vergleichsmöglichkeiten für die Karies beim Menschen geben.

1. Art des Versuchstieres

Bedenkt man aber die Kosten und die Zeitdauer, die Experimente mit diesen Tieren erfordern, so wird klar, daß nach Tieren gesucht wurde, bei denen diese Faktoren ausscheiden und bei denen trotzdem eine genügende Vergleichsmöglichkeit für die Karies beim Menschen gegeben ist.

Selbstverständlich müssen Tiere verwendet werden, deren Zähne hierzu geeignet sind. Zähne, die sich in einem dauernden Durchbruch befinden, d. h. Zähne, die sich an ihrer Kaukante dauernd abradieren, sind unbrauchbar und gewähren kein genaues Feststellen der Karies. So scheiden die in der Forschung oft verwendeten Kaninchen und Meerschweinchen hier als Versuchstiere aus. Seit langer Zeit werden deshalb in der tierexperimentellen Kariesforschung Ratten verwendet, wobei allerdings nur die Mahlzähne zur Auswertung geeignet sind. Ratten können verhältnismäßig einfach unter besonders standardisierten Bedingungen gehalten werden.

2. Versuchsdauer

Eine zweite Frage ist die Versuchsdauer. Nach E. M. Stelling und G. Gustafson (1952) muß die Experimentalzeit so bemessen sein, daß die Karies weit genug entwickelt ist, um sicher und genau diagnostiziert werden zu können. Andererseits darf die Zerstörung durch die Karies nicht soweit fortgeschritten sein, daß eine vergleichende Möglichkeit mit anderen Versuchsgruppen nicht mehr gewährleistet ist.

Als Versuchstiere werden zu Kariesexperimenten Rattenstämme verwendet, die durch Inzucht und kariogene Ernährung besonders kariesanfällig geworden sind. Da, wie später genauer berichtet werden soll, die Rattenincisivi permanent durch-

brechen, sind sie zur Auswertung nicht geeignet. Es werden hierzu nur die Molaren herangezogen.

3. Auswertungsmodus

Wird nun eine makroskopische Diagnostik und Auswertungsmethode gewählt, so muß man, um Läsionen an den Rattenmolaren feststellen zu können, eine Experimentalzeit von 3 - 6 Monaten wählen. Durch tiefgreifende Zerstörung der einzelnen Molaren ist es aber dann oftmals recht schwer oder unmöglich, sich über das Anfangsstadium, das sogenannte Initialstadium der Karies, ein genaues Bild zu machen. Bei einer mikroskopischen Diagnostiziermethode kann die Versuchsdauer auf 10 - 25 Tage beschränkt werden. Freilich ist es hierbei nötig, die Auswertung an (unentkalkten) Schliffen vorzunehmen; dazu sind die Präparate anzufärben. Es lassen sich aber das Initialstadium und das Fortschreiten der Karies durch die Schmelz-Dentingrenze genau beobachten. Außerdem ist es durch diese kurzfristige Methode möglich, in verhältnismäßig kurzer Zeit eine große Anzahl von Versuchen durchzuführen und so eine große Zahl karieshemmender Stoffe schnell und sicher untersuchen zu können. Die kurzzeitige Versuchsanordnung setzt allerdings eine genaue Standardisierung voraus. Darauf soll aber später eingegangen werden.

Im vorliegenden Versuch wurden klar definzierte, kariesanfällige Rattenstämme verwendet. Nach Beendigung des Versuches wurden die Tiere getötet, die Unterkiefer wurden herauspräpariert und bis zur Herstellung der Schliffe in 10 %igem Formalin aufbewahrt. Für jede Unterkieferhälfte wurden mit einer Schleifmaschine 5 - 7 sagittale Serienschliffe angefertigt, die nach Färbung für die diagnostische Auswertung geeignet waren. Die Kariesläsionen wurden in 4 Grade eingeteilt: A, B₁, B₂ und C.

4. Besonderheiten der im Versuch verwendeten Tiere

Vor der Beschreibung über die Versuchsanordnung und die Versuchsausführung soll eine kurze Übersicht über die Anatomie der Rattenzähne und die Besonderheiten der Osborn-Mendel-Ratte, wie sie im Versuch verwendet wurde, gegeben werden.

a) Anatomie der Zähne

Nach einer Tragzeit von 21 - 23 Tagen werden die kleinen Ratten nackt und blind geboren. Zu dieser Zeit sind die Tiere noch unbezahlt. Das erwachsene Tier hat im Unterkiefer und im Oberkiefer je zwei Nagezähne, die wurzellos sind, die aber weit in den Kiefer zurückreichen, bis in die Gegend der Mahlzähne. Auf der Außenfläche und zum Teil auf den Seitenflächen findet sich bei diesen Nagezähnen, den Incisivi, Schmelz. Der Innenseite liegt dem Dentin eine Zementschicht auf. Diese Anordnung von Schmelz und Dentin garantiert eine dauerhafte Schärfe dieser Zähne dadurch,

daß nämlich die Innenseite schneller abradiert wird als die schmelzbedeckte Außenseite. Durch diese dauernde Abrasion muß aber der Zahn dauernd nachgeschoben werden, das heißt, diese Zähne stehen in einem permanenten Durchbruch.

Eckzähne fehlen.

Die Mahlzähne nehmen vom 1. bis zum 3. Molaren an Größe ab.

Im Alter von 8 - 10 Tagen erscheinen bei diesen Jungtieren die Incisivi. Die Durchbruchszeiten für die Molaren sollen aus folgender Tabelle ersichtlich werden:

Zahn	Durchbruchszeit
1. unt. Molar	15. - 19. Tag
1. ob. Molar	15. - 19. Tag
2. unt. Molar	16. - 22. Tag
2. ob. Molar	17. - 22. Tag
3. unt. Molar	31. - 43. Tag
3. ob. Molar	39. - 45. Tag

19 - 21 Tage lang werden die Jungtiere vom Muttertier gesäugt. Daraus ergibt sich, daß die Tiere am 22. Lebenstag in den Versuch aufgenommen werden können. Es ist aber daraus auch ersichtlich, daß nur die 1. und 2. Molaren in diesen kurzfristigen Versuch durch die äußere Wirkung der Bürste beeinflußt werden können, da der 3. Molar erst in den letzten Versuchstagen oder gar nicht während der Versuchszeit durchbricht. Er kann daher zur diagnostischen Auswertung nicht herangezogen werden.

Es ist wichtig, die Tiere sogleich nach ihrer Entwöhnung und jeweils mit demselben Alter in den Versuch aufzunehmen, da nach K. G. König, Th. Marthaler und H. R. Mühlemann (1957) eine posteruptive Schmelzreifung eintritt, nach der die nur kurzfristige Einwirkung des Putzens in Frage gestellt wäre.

Die Kontaktpunkte der Rattenmolaren bilden ungefähr rechteckige Felder oder Flächen. Die Kronen sind durchzogen von tiefen bucco-lingualen bzw. von bucco-palatinalen Fissuren, wobei die Höcker der unteren Molaren nach mesial, die der oberen leicht nach distal gekippt sind. Durch die spätere sagittale Schleifführung läßt sich bei dieser Fissurenanordnung jede einzelne Fissur in ihrer ganzen Ausdehnung auf Karies untersuchen. Die Schmelzdicke beträgt je nach Lokalisation 0,03 - 0,15 mm. In Fundusnähe haben die Fissuren eine Breite von ungefähr 0,1 - 0,2 mm; nach occlusal werden sie breiter. Eine Ausnahme bildet die mesiale Fissur des 1. unteren Molaren, die sich bis zum Verschuß verengen kann. Die Höckerspitzen sind fast immer schmelzfrei. Im einzelnen gelten für die Molaren folgende Werte:

M₁ unten: Der Zahndurchmesser beträgt in mes.-

dist. Richtung 3 mm, in buc.-ling. Ausdehnung 1,8 mm. Der Zahn ist durch drei Fissuren in drei Haupthöcker und einen kleinen, im distalen Approximalraum befindlichen Nebenhöcker gegliedert.

M₂ unten: Der Durchmesser beträgt sowohl in mes.-

dist, wie auch in buc.-ling. Richtung 2 mm. Der Zahn besitzt zwei Haupthöcker und einen kleinen distalen Nebenhöcker (Hypokonius)

M₃ unten: Der Durchmesser in mes.-dist. Richtung

beträgt 1,8 mm, in buc.-ling. Richtung 1,5 mm. Der Zahn ist in zwei Haupthöcker aufgeteilt.

Obwohl die oberen Molaren zur Auswertung dieses Kariesversuches nicht herangezogen werden sollen, da sich an ihnen die Kariesläsionen weniger deutlich zeigen, so sollen die Eigenheiten dieser Zähne doch kurz erwähnt werden:

M₁ oben: Der Durchmesser in mes.-dist. Richtung

beträgt 3 mm, buc.-ling. 2,1 mm. Der Zahn besitzt drei Höckermassive.

M₂ oben: Mes.-dist. Durchmesser 2,2 mm. buc.-ling.

Durchmesser 2,1 mm. Der Zahn besitzt zwei tiefe Fissuren und drei Höcker.

M₃ oben: Mes.-dist. Durchmesser 1,4 mm, buc.-ling.

Durchmesser 1,5 mm. Zwei Fissuren und drei Höcker.

b) Zusammensetzung des Schmelzes

Der Schmelz der Rattenmolaren besteht zu 96 - 98 % aus anorganischem Material, davon sind 90 % phosphorsaurer Kalk. Der Rest ist kohlenaurer Kalk, phosphorsaures Magnesium, Fluorkalzium und Spurenelemente. Der Schmelz besteht aus 6-flächigen Prismen, die radiär vom Dentin zur Zahnoberfläche verlaufen. Zwischen den Prismen soll sich eine interprismatische Substanz befinden. (E. Hagemann, 1960). Nach E. Wannenmacher (1963) besteht der Schmelz beim Menschen aus 2 - 3 % organischer Substanz. Die anorganische Substanz enthält zu 90 % phosphorsaurer Kalk, während kohlenaurer Kalk, Magnesium und Fluor nur in geringen Mengen vorhanden sind. Weiterhin enthält der Schmelz 4 - 5 % Wasser. Er ist also durchaus eine Vergleichsmöglichkeit des Schmelzes der Ratte mit dem des Menschen gegeben.

c) Prädilektionsstellen für die Karies bei der Ratte
Die Prädilektionsstellen sind die Fissuren. Bei Anfärbung mit Schiff'schem Reagenz nach Graumann lassen sich die kariös veränderten Fissuren darstellen. Die Anfärbbarkeit der Approximalräume ist auf eine noch ungenügende Schmelzreife zurückzuführen, weswegen sie auch bei der Auswertung außer Acht gelassen werden müssen.

Es wurde der Versuch unternommen, die Ratten nach Geschlecht gesondert zu beurteilen. Da aber bei diesen Jungtieren keine besondere geschlechtliche Disposition hinsichtlich der Kariesanfälligkeit vorliegt (H. R. Mühlemann, 1957) und außerdem die geschlechtliche Unterscheidung im Alter von 22 Tagen nur schwer möglich ist, wurde darauf verzichtet.

III. Versuchsanordnung

In Anlehnung an die Versuche, die K. G. König, Th. Marthaler und H. R. Mühlemann (1958) bei ihren kurzfristig durchgeführten Kariesversuchen an Ratten unternommen hatten, wurde dieses Experiment aufgebaut.

Um nun von vornherein ein günstiges, das soll heißen, ein brauchbares und objektives Ergebnis erzielen zu können, ist es nötig, bestimmte Bedingungen und Regeln einzuhalten, bei deren Nichtbeachtung die Genauigkeit der Ergebnisse und Resultate beeinträchtigt würden.

1. Voraussetzungen für einen Blindversuch

So muß eine subjektiv in den Versuch gesetzte Erwartung ausgeschaltet werden. Sie kann immer dann auftreten, wenn beispielsweise der Untersucher und die Probanden um die Beschaffenheit und Wirkungsweise eines zu untersuchenden Mittels

wissen. Die Erwartung, daß dieses oder jenes Ergebnis zu Tage trete, kann so groß sein, daß das in einem solchen Versuch gewonnene Resultat tatsächlich von einem objektiven Ergebnis abweicht. Würde in diesem Fall Art und Wirkungsweise der zu prüfenden Substanz den Probanden unbekannt sein, könnten wir objektive Ergebnisse erzielen. Man kann diese Versuchsanordnung als Blindversuch bezeichnen. Sind sowohl dem Untersucher, wie auch den Probanden das zu untersuchende Mittel in Zusammensetzung und Wirkungsweise unbekannt, so handelt es sich um einen doppelten Blindversuch (G. Kuschinsky und H. Lüllmann, 1964). Die Erwartung, daß dieses oder jenes Ergebnis sich zeigen möge, ist durch diese Faktoren ausgeschaltet. Man erhält ein tatsächliches Ergebnis des Versuches.

Um in diesem Tierexperiment alle irgendwelchen Erwartungen auszuschalten und um ein möglichst genaues und objektives Ergebnis zu erzielen, wurde dieser Versuch ebenfalls im Sinne eines Blindversuches durchgeführt. Die Ausführung eines doppelten Blindversuches ist hier nicht möglich, da das Putzen mit Paste, das Putzen mit Aqua destillata und das Unterlassen des Putzens sich nicht "blind" durchführen lassen.

Da aber anderen Auswertern nach durchgeführtem Putzversuch die Gruppenzugehörigkeit des Auswertungsmaterials unbekannt war, so war die Bedingung für einen Blindversuch erfüllt. Beim Putzen mit den beiden Pasten konnten allerdings die Bedingungen für einen doppelten Blindversuch eingehalten werden, da es nicht bekannt war, ob und bei welcher Paste es sich um eine Wirkstoffpaste oder um eine Placebopaste handelte. Wir haben also hier praktisch eine Kombination von einfachem und doppeltem Blindversuch.

2. Standardisierungsmöglichkeiten

Bei diesem kurzfristigen Kariesversuch an Tieren sind an das Versuchsmaterial, an die Raumbeschaffenheit, an die Ernährung und an andere Faktoren gewisse Bedingungen zu stellen (W. H. Weihe, 1964). Man muß eine Standardisierung, das heißt, eine Bedingungslosigkeit für alle Tiere beachten und schaffen.

a) Zuchtraum

So müssen die Räumlichkeiten, in denen die Tiere gehalten werden, peinlichst sauber und in hygienisch einwandfreiem Zustand sein. Fliegen und sonstige Insekten dürfen wegen der Gefahr einer Krankheitsübertragung keinen Zutritt zu den Tierstätten haben. Das Temperaturoptimum im Raum ist bei $22^{\pm} 2^{\circ}$ C. 27° C darf als Maximum nicht überschritten

werden (F. Rozeik, 1961). Die relative Luftfeuchtigkeit liegt bei 45 - 55 %. Die Lichtverhältnisse müssen für alle Käfige gleich sein. Diese Bedingungen wurden in diesem Experiment eingehalten.

b) Zuchtstamm

Da es sich auch bei Tieren einer Rasse um Individuen mit verschiedenen Erbanlagen und sonstigen Unterscheidungsmerkmalen handelt, ist es für ein Tierexperiment nötig, nur klare Zuchtstämme zu verwenden. Um für dieses Experiment kariesanfällige Tiere zu erhalten, wurden für die Zucht nur solche Tiere verwendet, die durch eine große Anzahl von Generationen in Inzucht gezogen wurden und die so ihre Kariesanfälligkeit gewonnen und erhalten haben. Nach der Norm des Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice (1960) gelten als Inzuchtstämme Zuchten, die seit mindestens 20 Generationen in Bruder-, Schwester- oder Eltern-Kind-Paarung gewonnen wurden. Danach nähern sich die Individuen eines solchen Zuchtstammes der Isozygotie. Bei Verwendung eines so definierten Inzuchtstammes darf wohl die Kariesanfälligkeit als bei allen Tieren die gleiche betrachtet werden.

c) Käfigklima

Nach einer Stillzeit von 21 Tagen wurden die Tiere am 22. Tag in den Versuch genommen. Um in allen Käfigen möglichst das selbe Käfigklima zu erreichen, wurden in einen Käfig im allgemeinen 5 Tiere aufgenommen. Da es aber kaum möglich ist, die Gesamtzahl der Tiere, die für den Versuch benötigt wurden, an ein und demselben Tag zu erhalten, sondern da die Geburtstage um 2 oder 3 Tage schwankten, wurden die Tiere gestaffelt in den Versuch gebracht. Gleichzeitig konnte dadurch erreicht werden, daß alle Tiere über alle Gruppen verteilt werden konnten, was zur Schaffung gleicher Blöcke wichtig ist. Zum anderen aber war es möglich, daß jedes Tier am 22. Tag nach seiner Geburt in den Versuch aufgenommen werden konnte. Das ist bei diesen kurzzeitigen Kariesversuchen sehr wichtig, zumal nach Durchbruch eines Rattenmolaren eine postoperative Schmelzreifung eintritt. (H.R.Mühlemann, 1957). Als Nachteil muß erwähnt werden, daß somit nicht in allen Käfigen an sämtlichen Versuchstagen die Belegzahl von 5 Ratten pro Käfig garantiert war, sondern daß einige Käfige an manchen Versuchstagen nur mit 3 oder 4 Tieren besetzt waren. Die Käfige hatten alle dieselbe Beschaffenheit und Größe; sie waren 48 cm lang, 24 cm breit und 18 cm tief. Um Verwechslungen unter den Tieren zu vermeiden, wurde jedes Tier

verschieden mit Pikrinsäure gezeichnet. Zur Verhinderung einer Koprophagie wurden die Tiere in Käfigen mit Drahtmaschenböden gehalten. Fütterungs- und Trinkanlagen wurden für alle Käfige einheitlich verwendet. Auf eine genügende Sauberhaltung der Käfige wie auch der Futter- und Trinkanlagen während des Versuches wurde aufs genaueste geachtet, da nach F. J. Mc. Clure (1953) die Kariesanfälligkeit hiervon abhängen kann.

3. Gruppeneinteilung

Die Versuchstiere wurden in 4 Gruppen aufgeteilt, wovon zwei Gruppen je mit einer Zahnpaste behandelt wurden, die 3. Gruppe wurde mit Aqua destilata behandelt. Als Kontrollgruppe wurde die 4. Gruppe nicht gebürstet. Die Pasten waren nur mit Nummern gekennzeichnet, die Zusammensetzung war aber unbekannt. Um nun einer Verminderung einer Gruppe durch eventuelle Tierverluste oder durch Nichtgelingen eines Untersuchungspräparates entgegenwirken zu können, wurden die Gruppen mit 25 Ratten besetzt. So konnte jede Gruppe am Ende des Versuches noch sicher auf der gewünschten Stückzahl von 20 Tieren, das heißt, auf der geforderten Anzahl von Präparaten gehalten werden, die dann zur Untersuchung bereitlagen. Um zu vermeiden, daß in einer Gruppe sich nur Tiere eines einzigen Wurfes oder von nur 2 Würfen befinden, wurden die Tiere

gleichmäßig und zufällig auf sämtliche Gruppen verteilt. Da gleichzeitig ein ähnlicher Parallelversuch mit ähnlicher Gruppeneinteilung im Tierzuchtstall durchgeführt wurde, konnten sogar die einzelnen Würfe auf 7 Gruppen verteilt werden. So war es ausgeschlossen, daß trotz der langen Reihe von Inzuchten eventuell noch vorhandene erbliche Dispositionen sich nur auf eine Gruppe beschränken könnten, sondern es ist eine Verteilung über sämtliche Gruppen erreicht. Somit sind alle Gruppen als gleich anzusehen. Es sind gleiche Blöcke geschaffen worden.

4. Putzmethode

Ein recht schwieriges Problem war es, den jungen, kleinen, gerade erst entwöhnten Ratten die Zähne zu putzen und zwar so, daß ein wirklicher Putzeffekt zustande kam. Andererseits durften die Tiere nicht verletzt werden. Ein Auftragen der Paste mit einem Pinsel darf wohl nicht als Putzen bezeichnet werden.

a) Auswahl der Bürste

In Vorversuchen, in denen die Art des Putzens und evtl. brauchbare Bürsten geprüft wurden, zeigte es sich, daß z. B. eine umgearbeitete Pipettenreinigungsbürste, die rundum von Borsten besetzt ist, für diesen Tierversuch kaum in Frage kam (siehe Abb. 1). Der Verletzungsgrad bei den Tieren war zu groß, es traten während des Putz-

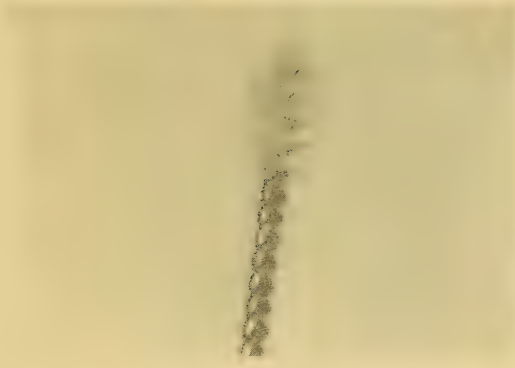


Abb. 1 Pipettenreinigungsbürste

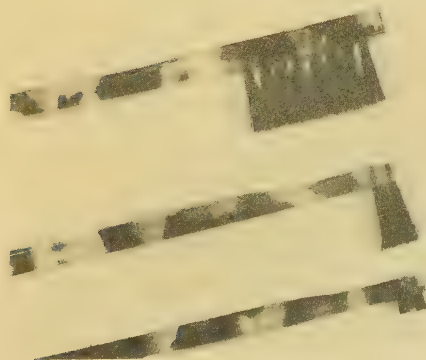


Abb. 2 Wimpernbürste (oben), die zur brauchbaren
Rattenzahnbürste (unten) umgearbeitet wurde

vorganges Blutungen ein. Schließlich konnte aus einer einreihigen Wimpernbürste aus Zelluloid (und mit synthetischen Borsten) eine brauchbare Bürste geschaffen werden (vergleiche die Ausführungen von J.P. Lazansky (1947), und D.S. Chernausek, D.F. Mitchell (1951)). Mittels Nylonscheiben und Schleifsteinen wurde diese Bürste klein und grazil geschliffen. Schnitt- und Schleifkanten wurden mit Gummipolierern glattpoliert. Die Borsten wurden bis auf eine Länge von 3 mm gekürzt (siehe Abb. 2). Mit dieser Bürste war eine brauchbare Möglichkeit gefunden, die reinigende Wirkung einer Zahnbürste (H. Leonhardt, 1961) im Tierversuch nachzuahmen. Andere Bürsten, die sich vielleicht nach ihrer Borstenart als geeignet gezeigt hätten, konnten, da sie aus zu sprödem Kunststoff bestanden, nicht verarbeitet werden.

b) Art des Bürstens

Wie sich in den Vorversuchen zeigte, war es nicht möglich, mit einem starr angefertigten Drahtapparat den Mund der Tiere für den Putzvorgang offen zu halten. Dies konnte erst mittels einer kleinen Arterienklemme erreicht werden, wobei das Tier von einer zweiten Person fest in Rückenlage gehalten werden mußte (siehe Abb. 3 und 4). Erst so konnte eine befriedigende Putzmethode erreicht werden und die Verletzungsgefahr für die Tiere konnte weitgehend ausgeschaltet werden. Beim richtigen Einfügen der Bürste war es nicht nötig, die Zunge gesondert abzuhalten;



Abbildung 3. Das Maul der Ratte wird mit einer Arterienklemme maximal geöffnet. Putzvorgang im rechten Unterkiefer. Die Zunge braucht nicht gesondert abgehalten werden.



Abbildung 4. Putzvorgang im linken UK.

eine Kontrolle für richtiges Putzen gibt das charakteristische Putzgeräusch, das dadurch entsteht, daß die Bürste über die harte Zahnschmelz und die bucco-lingual angeordneten Fissuren gleitet (siehe Abb. 5)

c) Putzzeit

Es wurde festgesetzt, daß auf jeder Unterkieferseite 10 Sec. lang geputzt werde. Auf ein Putzen der Oberkieferseitenzähne wurde verzichtet, da nach K. G. König, Th. Marthaler und H. R. Mühlemann (1957) die Kariesläsionen im Oberkiefer beim kurzfristigen Versuch weniger ausgeprägt sind. Ob hier weniger Kariesanfälligkeit als im Unterkiefer vorliegt, soll dahingestellt bleiben. Nach den Erfahrungen des Vorversuches war es unzumutbar, die Putzzeit von 10 Sec. mit der Stoppuhr zu bestimmen, da bei einer möglichen Abwehrreaktion des Tieres die Bürste die Zahnreihe verlassen kann. Während dieser Zeit läuft eine Uhr weiter; ein genau eingeübtes Zählen kann aber solange unterbrochen werden, bis die Bürste wieder richtig über die Zahnreihe gleiten kann. Deshalb wurde auch im Versuch die Putzzeit mittels Zählen bestimmt. Ein leichtes Einschlafen der Tiere mit Chloroform wurde abgelehnt, da es hierbei leicht zu größeren Tierverlusten kommen kann. Ebenfalls könnte eine schädigende Wirkung des

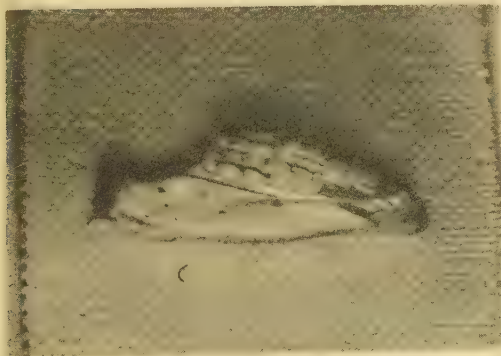
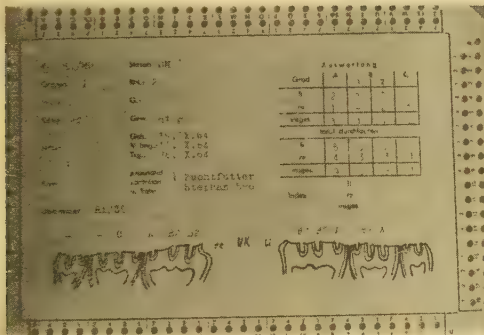


Abb. 7 Geschliffen

Chloroforms nicht genau übersehen werden.

Sofort nach dem Putzen mit Paste wurde den Tieren mit einem Zellstoffkügelchen das Maul gereinigt. Watte hatte den Nachteil, daß sich losgelöste Wattefäden leicht in den Zähnen verfangen und sich nur schwer wieder aus dem Maul der Tiere entfernen ließen. Deshalb wurde diese Reinigung mit Zellstoff durchgeführt. Es wurde darauf geachtet, daß für jedes Tier gleich viel an Putzmittel verwendet wurde. Eine exakte Bestimmung der Pastenmenge ließ sich schlecht durchführen, da bei vorkommenden Abwehrreaktionen der Tiere die Paste im Maul verschmiert werden konnte. Da sich während des Putzversuches die Borsten abnützten, wurden die Bürsten nach 7-tägigem Gebrauch durch neue ersetzt. Für jede Gruppe, das heißt, für jede Zahnpaste und für Aqua destilata, wurde eine eigene Bürste verwendet. Bei Tieren gleicher Gruppenzugehörigkeit wurde die Bürste vor jedem Putzvorgang mit Aqua destilata gereinigt.

5. Futterzusammensetzung

Allen Tieren wurde während der 14-tägigen Versuchsdauer kariogene Kost zugeführt. Als kariogenes Rattenfutter wurde die Zubereitung nach Stephan 580 gewählt. Dieses Futter enthält 66 % Rohrzucker, 32 % Trockenmagermilchpulver und 2. % pulverisierte Schweinetrockenleber.

Um irgendwelche Salzzuführen durch das Trinkwasser auszuschalten, die unkontrolliert den Schmelz beeinflussen könnten, wurde als Trinkwasser Aqua destilata verabreicht. Bei der Zusammenstellung dieses Futters darf der Versuch nicht länger als 25 Tage ausgedehnt werden, da sich sonst wegen einseitiger Ernährung Schädigungen an den Tieren zeigen können. Nach B. G. Bibby und G. N. Davies (1958) ist die kariogene Wirkung dieser Diät auf die Rattenmolaren genügend. Zusätzliche Beimengungen und Gaben von Zuckerlösungen oder Organgensaft bringen keinen stärkeren Kariesbefall. Die kariogene Wirkung dieser Diät ist also wegen des hohen Zuckergehaltes von 66 % durchaus genügend. Um einer Verklumpung des Futters vorzubeugen, wurden die Futternäpfe täglich kontrolliert bzw. mit neuem Futter versehen. Die kariogene Wirkung ist in feiner Form nämlich größer als es bei verklumptem Futter der Fall ist.

6. Fütterungsmodus

Den Ratten wurde 2 Stunden lang nach dem Putzen das Wasser und das Futter entzogen, um das Putzen als solches sinnvoll zu gestalten. Dabei wurde so vorgegangen, daß täglich zur selben Zeit fortlaufend mit einem anderen Käfig mit dem Putzen begonnen wurde. Dadurch sollte verhindert werden, daß einer Anzahl von Tieren das Futter jeweils zu bestimmter Stunde entzogen bzw. gegeben werde, wenn vielleicht gerade der

Hungerdrang besonders groß bzw. besonders klein war. Durch das zeitliche Verschieben wurde also für alle Käfige eine einmal zu durchlaufende Periode des Futterentzugs bzw. der Futtergabe, bezogen auf die Zeit, erreicht.

7. Wiegen der Tiere

Die Tiere wurden zu Beginn des Versuches, nach sieben Versuchstagen und nach Abschluß des Versuches gewogen. Die durchschnittlichen Gewichtswerte zeigten eine normale Zunahme. Daraus ist zu schließen, daß bei dieser kurzdauernden Versuchsreihe keine besonders auffälligen Allgemeinschäden durch kariogene Kost für die Tiere entstanden sind, obwohl die Diät nach Stephan 580 nicht als vollwertiges Rattenfutter angesehen werden darf.

IV. Auswertung

Nach 14 vollen Versuchstagen wurden die Tiere durch eine Chloroformnarkose getötet. Mit einer Schere wurden die beiden Unterkieferhälften freipräpariert und die Weichteile im groben entfernt. Bis zum Herstellen der Schliffe wurden die Kiefer in 10 %igem Formalin konserviert und aufbewahrt.

2. Herstellen der Schliffe

Zum Herstellen der Schliffe wurde die von W. Büttner, H. D. Cremer und M. Herrmann (1956) beschriebene Maschine verwendet. Vor dem Schleifen wurden die Kiefer gewässert, um überschüssiges Formalin zu entfernen; alle noch anhaftenden Weichteile wurden restlos entfernt. Das Wesentlichste der Schleifmaschine ist die diamantbelegte Phosphorbronzescheibe von 90 μ Stärke. Zur Kühlung wird ein dünner Wasserstrahl verwendet. Es wurden nun von den einzelnen Kiefern sagittale Serienschliffe angefertigt. Hierzu wurden die einzelnen Kieferhälften mit thermoplastischer Masse (Stenz oder Kerr) so auf dem Objektträger der Maschine fixiert, daß sie in sagittaler Richtung parallel zur Schliffläche der Scheibe angeordnet waren. Mit einer Mikrometerschraube ließen sich die Objekte so zur Schliffläche vorschieben, daß 5 - 7 Schliffe von ungefähr 100 μ Stärke hergestellt werden konnten. Beim Schleifen wurde von buccal begonnen. Der Schliff wurde so tief in den Kiefer geführt, daß sich später die einzelnen Schliffpräparate leicht mit dem Skalpell trennen ließen; andererseits durften die Kiefer noch nicht in die einzelnen Schliffe zerfallen. Die unter Wasserberieselung geschliffenen, noch

nicht zerlegten Kiefer wurden nun mehrere Stunden getrocknet.

2. Färbmethode

Zum Färben wurden die trockenen Kieferhälften mit einem Tropfen Schiffsreagenz (nach Graumann ¹⁾) benetzt und nach einer Einwirkungsdauer von ungefähr 10 Sekunden in destilliertem Wasser geschwenkt. Anschließend wurden die Kiefer mit Hilfe eines kleinen Skalpells in die einzelnen Schliffe zerlegt. Hätte man die schon zerlegten Einzelschliffe jeweils für sich und extra gefärbt, so wäre die Färbung so intensiv ausgefallen und die Auswertung wäre dadurch erschwert gewesen. Gesunde Zahnschubstanz wird nicht angefärbt, während sich kariöser und unreifer Schmelz rot bis violett anfärbt. Da die Verzögerung des Schmelzreifungsprozesses in den Approximalräumen besonders ausgeprägt ist, wurden diese nicht zur Beurteilung der Karies herangezogen. Fleckige Anfärbung deutet auf beginnende Karies.

1) Methode nach Graumann:

a) 0,5 g. Pararosanilin acridinfrei Stand.

Bayer in 15 ml n-HCl ohne Erwärmen unter Schütteln vollständig lösen.

b) 0,5 g. Kaliummetasulfit ($K_2S_2O_5$) in 85 ml

destilliertem Wasser lösen und zusetzen.

- c) die klare kräftige rote Lösung hellt sich allmählich auf und wird dabei gelblich. Sie wird nach 24 Std. mit 0,3 g Aktivkohle 2 Min. geschüttelt und dann filtriert. Das Reagenz ist sofort gebrauchsfertig (zit. nach W. Lipp)

während eine diffuse Rotfärbung auf unreifen Schmelz schließen läßt. Die Anfärbbarkeit soll auf eine Anwesenheit von Aldehydgruppen zurückzuführen sein.

3. Herstellen der Präparate

Die Schliffe wurden nun so untereinander auf einen Objektträger gelegt, daß die lingualen Schliffe jeweils oben, die buccalen also unten auf dem Objektträger zu liegen kamen. Mit Tesafilm wurden die Schliffe auf dem Glas fixiert. Rechte und linke Kieferhälften wurden auf getrennten Objektträgern aufgezogen. Durch diese Anordnung der einzelnen Schliffe können die einzelnen Fissuren in ihrer gesamten buccolingualen Ausdehnung auf Karies untersucht werden. (Siehe Abbildung 8 und 9)

4. Diagnostiziermodus

a) Einteilung der Kariesläsionen

Die im Versuch vorkommenden Kariesläsionen werden in die Grade A, B und C eingeteilt. Grad B (er ist nach F. L. Losee (1954) als eigentlich beginnende Karies anzusehen), bei dem allgemein die frühen B-Stadien als T-Stadien abge-sondert werden, wurde hier im Versuch in B₁



Abb. 8 Angefärbtes und auf den Objektträger aufgezo-
genes Einzelprä-
parat.

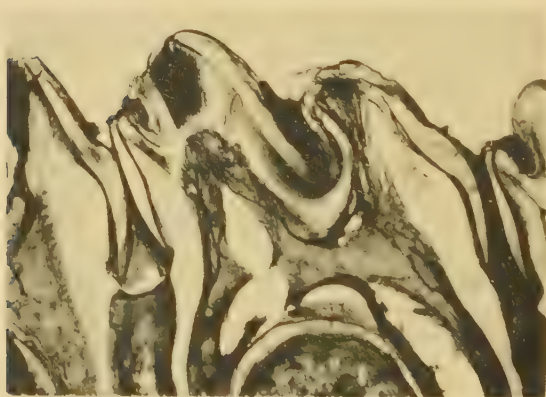


Abb. 9 Präparat wie in Abbildung 8, aber
stärkerer Kariesbefall.

und B_2 aufgeteilt. Im einzelnen geben die 4 verschiedenen Grade folgende Stadien der Karies wieder:

Grad A: Die Farbreaktion ist auf den Schmelz beschränkt. Die Schmelzoberfläche ist intakt. Schmelz-Dentinggrenze ist nicht gefärbt.

Grad B_1 : Farbreaktion an der Schmelz-Dentinggrenze

Grad B_2 : Farbreaktion an und jenseits der Schmelz-Dentinggrenze, halbmondförmige Ausbreitung unter dem Schmelz.

Grad C: Intensive Färbung in der Tiefe des Dentins und höckerwärts entlang der Schmelz-Dentinggrenze. Abheben des Schmelzes, beginnende Kavitation.

b) Auswertungsmodus der Untersucher

Die Auswertung wurde bei 20-25-facher Vergrößerung unter einem binocularen Aufsichtsmikroskop von zwei voneinander unabhängigen Untersuchern vorgenommen. Gruppenzugehörigkeit der einzelnen Präparate, wie auch die Zusammensetzung der verwendeten Zahnpasten war beiden Untersuchern zu diesem Zeitpunkt noch unbekannt. Bei gelegentlich vorkommenden Unterschieden der beiden Auswerter (Riethe - Zilz) in der Beurteilung eines Kariesgrades wurde das betreffende Präparat in gemeinsamer Absprache diagnostiziert.

Unterschiede um zwei Grade kamen nicht vor. Von statistischer Seite wurden gegen diese Art der Beurteilung keine Bedenken eingeräumt. Th. Hürny (1964) unterscheidet drei Typen im Kariesgeschehen: nämlich den Kariesbefall, der die Anzahl der von Karies befallenen Individuen angibt; dann die Kariesintensität, die sich mit dem Kariesbefall des einzelnen Individuums befaßt; und die Kariesaktivität, die den Kariesablauf in einer gewissen Zeitspanne angibt. Unter diese dritte Kategorie sind die in diesem Versuch gewonnenen Ergebnisse einzuordnen.

Die Ergebnisse der Auswertung wurden für jedes Tier auf eine Lochkarte übertragen (S. Abb. 6) Es wurde sowohl die Anzahl der einzeln vorgekommenen Gradstufen vermerkt, wie auch die nach dem Schema "Total Durchlaufen" vorgekommene Zahl von Graden. (Sogenannte Longitudinale Auswertung). So wurden in diesem Fall beim Kariesgrad C die Stufen A, B₁ und B₂ mitgezählt, da ja Grad C mit Sicherheit diese Stufen schon durchlaufen hatte. Ebenso mußten für B₂ die Stufen A und B₁ mitgezählt werden, wie auch bei Grad B₁ die Stufe A. Die Summe aller so vorgekommenen Grade wurde sowohl für rechte und linke Kieferseite getrennt, wie auch für beide Seiten zusammen eingetragen. Außerdem wurden noch folgende Daten auf der Karte vermerkt:

Laufende Nummer des Tieres, Gruppenzugehörigkeit, Geburts- und Versuchsdaten, Futterart pränatal bzw. während der Laktation und nach der Entwöhnung, d.h., während des Versuches. Außerdem sind die Namen der Untersucher auf der Karte festgehalten.

V. Kurze enzym-chemische Übersicht zu der Amylase enthaltenden Paste.

Nachdem die Präparate der 4 verschiedenen Gruppen untersucht waren, konnte die Zusammensetzung der beiden Pasten in Erfahrung gebracht werden. So wurde eine Gruppe des Versuches mit einer Paste auf Phosphatbasis (als Putzkörper) + schäumenden Bindemitteln behandelt. Es handelt sich also um eine normale schäumende Zahnpaste, die außer den Putzkörpern keine anderen Substanzen enthält, die sich in irgendeiner Weise fördernd auf die Kariesprophylaxe auswirken könnten. Die zweite Paste hatte zusätzlich zu den Putzkörpern - hierin unterschieden sich die Pasten nicht - als "Wirkstoffkomponente" Bakterienamylase. (Die α -Amylase stammte von *Bacillus subtilis* und enthielt 15000 SKB [Sandstedt-Kneen-Blish] -Einheiten pro g Enzym).

Es soll deshalb hier in Anlehnung an E. Lehnarzt (1959) eine kurze Ausführung über das Enzym Amylase folgen.

1. Erläuterung des Begriffes Enzym

Amylase gehört in die große Gruppe der Enzyme. Als Enzyme oder Fermente - eine Unterscheidung dieser beiden Stoffe wird heute nicht mehr vorgenommen - gelten Stoffe, die ähnlich wie Katalysa-

toren den Auf-, Um- oder Abbau von Substanzen bedingen. Sie kommen nur in belebter Materie vor, können aber auch ihre Wirksamkeit losgelöst vom Organismus entfalten. Die Fermente stellen Eiweißkörper dar; um ihre Wirkung entfalten zu können, müssen sie sich in einem ihnen zugehörigen Milieu befinden.

2. Enzyme als kariesprophylaktische Mittel

Hier drängt sich die Frage auf, weshalb Enzyme als kariesprophylaktische Mittel verwandt werden können. F. Bramstedt und R. Naujoks (1962) konnten bei kariesanfälligen Personen feststellen, daß das Verschwinden von Kohlehydraten aus der Mundhöhle bei diesen Personen im Gegensatz zu Personen mit kariesresistenten Gebissen verlangsamt ist. Sie konnten weiterhin feststellen, daß dieses langsamere Verschwinden der Kohlehydrate aus der Mundhöhle der Kariesanfälligen auf eine verminderte Enzymaktivität des Speichels zurückzuführen sei; bei Kariesresistenten war die Enzymaktivität erhöht. Bramstedt's und Naujoks Untersuchungen betrafen Fermente, die Disaccharide und Glukose abbauen (Hexokinase und Aldolase). Bei Betrachtung dieser Versuchsergebnisse ist es verständlich, eine evtl. mangelnde Enzymaktivität des Speichels durch Zusatz von Enzymen in der Zahnpaste auszugleichen. Dabei ist gedacht, die lange Verweildauer großmolekularer Substanzen in der Mundhöhle zu verkürzen, um sie

dadurch den Plaques zu entziehen. So stünden dann diese Substanzen den Plaques zur Vergärung nicht mehr zur Verfügung.

3. Einflüsse auf die Enzymaktivität

Die Wirksamkeit eines Fermentes hängt von verschiedenen Faktoren ab (E. Lehnartz, 1959), die für ein Enzym ein Wirkungsoptimum schaffen können. So ist die Enzymwirkung abhängig

a) von der Konzentration, in der es vorliegt.

Zunehmende Fermentkonzentration steigert den Umsatz je Zeiteinheit

b) Weiterhin kann die Reaktionsgeschwindigkeit

durch Temperaturerhöhung um 10°C um das doppelte gesteigert werden (R-G-T-Regel).

Eine beliebige Temperatursteigerung kann aber nicht vorgenommen werden, da die Eiweißstruktur der Enzyme schon ab 40°C irreversibel verändert sein kann.

c) Jedes Enzym hat sein Wirkungsoptimum bei einer speziell ihm zugehörigen Wasserstoffionenkonzentration. Ist diese nicht erreicht, so kann keine optimale Wirkung auftreten.

d) Nicht nur die Wasserstoffionenkonzentration ist für die maximale Wirkung eines Fermentes entscheidend, sondern auch die Zusammensetzung des übrigen Ionenmilieus.

e) Weiterhin wichtig ist die Substratkonzentration, das heißt, des Stoffes, der umgesetzt werden soll; zunehmende Substratkonzentration erhöht die Wirkung eines Fermentes.

Nach den hauptsächlichsten Endprodukten, die durch die Umsetzung der Amylase entstehen, nämlich der α und der β -Maltose, unterscheiden wir eine α - und eine β -Amylase. Beim Umsatz mit Pankreasamylase erhält man α -Maltose. Amylase gehört zu der Gruppe der Glykosidasen, die wiederum zu der Gruppe der Hydrolydasen gehören. Durch diese Enzyme wird die glykosidische Bindung der Makromoleküle hydrolisiert, das heißt unter Wasseraufnahme gespalten. Unter glykosidischer Bindung verstehen wir, daß sich das Acetalhydroxyl eines Monosaccharides mit einem der Hydroxyle eines anderen vereinigen muß.

4. Wirkungsweise der Amylase

Zu den Stoffen, die durch α -Amylase des Pankreas umgesetzt werden, gehören die Polysaccharide Stärke und Glykogen. Beide Substanzen sind aus α -D-Glukose aufgebaut. Stärke setzt sich aus zwei Fraktionen zusammen, der Amylose und dem Amylopektion. Die prozentuale Zusammensetzung dieser beiden Fraktionen kann bei verschiedenen Stärken verschieden sein. Für die Blaufärbung der Stärke bei Jodzufuhr ist die Amylose verantwortlich. Glykogen ist ein der Stärke nahe verwandtes Polysaccharid. Diese beiden Stoffe werden von α -Amylase hauptsächlich zu α -Maltose oder Malzzucker gespalten; das sind Disaccharide, die aus einem Glukosidrest und einem Glukoseres rest bestehen, wobei die genaue chemische Bezeichnung α -D-Glukosido - $\langle 1,5 \rangle$ -4-D-Glukose wäre.

Die Amylose, der eine Bestandteil der Stärke, wird zunächst in größere Bruchstücke und schließlich in ein Gemisch von ungefähr 13 % Glukose und 87 % Maltose gespalten, Amylopektin dagegen wird in etwa 19 % Glukose, 72 % Maltose und 8-9 % Isomaltose aufgespalten.

Amylase wird durch Zusatz von NaCl weitgehend aktiviert, wobei die Aktivierung durch Chloride spezifisch für Amylase ist.

Nach B. Jacoby und C. R. Leeson (1959) beträgt in der Glandula submaxillaris der jungen Ratten die Konzentration für Na $160 \pm 12,6$ meg/l, für Cl $120 \pm 3,1$ meg/l. Allerdings ist hier zu berücksichtigen, daß diese Messungen in den terminalen Gängen durchgeführt wurden und die Konzentration in den distalen Gängen abnimmt, so daß die angegebene Konzentration von Na und Cl im Speichel der Ratte noch mehr verringert sein dürfte. Auf jeden Fall aber wäre eine Voraussetzung für die Aktivierung der Amylase durch diese beiden wichtigen Ionen im Rattenmaul gegeben. Das pH-Optimum der Pankressamylase liegt bei 5,6 - 6,5. Nach eigenen Messungen mittels Indikatorpapier wurde im Mund der Ratte ein pH-Wert von 8,3 - 8,5 festgestellt. Diese Differenz in den pH-Werten muß eine Wirkung der Amylase in der Paste abschwächen.

VI. Zur allgemeinen Verwertbarkeit der aufgezeigten

Versuchsdurchführung - Vergleich der Pasten

Um in diesem Versuch wenigstens teilweise die Bedingungen für einen doppelten Blindversuch zu schaffen, war zu Beginn des Versuches und während der Auswertung die Zusammensetzung der beiden Pasten unbekannt. Es konnte also bei der Planung des Versuches nicht vorhergesehen werden, daß eine Paste auf Enzymbasis zur Untersuchung beigegeben wurde.

Wenn nämlich unter diesem Gesichtspunkt die zur Enzymwirkung notwendige Substratkonzentration betrachtet wird, so muß man feststellen, daß praktisch eine Substratmenge für Amylase nicht vorhanden ist. Die 66 % Rohrzucker stellen ein Disaccharid aus einem Glucosid- und einem Fructosidrest dar. Da Amylase die großmolekularen Substanzen Stärke und Glykogen nur bis zu den Disacchariden spaltet, ist von diesem Ferment hinsichtlich des Rohrzuckers auch keine Wirkung zu erwarten. Magermilchpulver, das 32 % der Rattendiät ausmacht, enthält ungefähr 4,12 % Wasser, 1,44 % Fett, 35,02 % Eiweiß, 49,63 % Milchzucker und 8,08 Mineralstoffe (Handbuch der Lebensmittelchemie 1936).

Milchzucker stellt ebenfalls ein Disaccarid dar. (Glactosid- und Glucoserest). Somit kann auch im Trockenmilchpulver kein Substrat für Amylase festgestellt werden. Für einen Glykogenanteil im Rattenfutter kommt also nur die Trockenleber in Betracht. Da der Glykogenanteil in der Leber nur sehr gering ist und weiterhin die Trockenleber nur mit 2 % im Gesamtfutter vertreten ist, ist es einleuchtend, daß diese äußerst geringe Substratmenge nicht ins Gewicht fällt.

Zum Zweiten war bei der Planung des Versuches davon ausgegangen, in diesem Experiment die Bürstmethode erstmals zu prüfen; und hierzu mußten Bedingungen geschaffen werden, die ein frühzeitiges Auftreten von Kariesläsionen garantierten. Deshalb wurde die bereits erwähnte kariogene Kost nach Stephan 580 gewählt, weil die hohe Zuckerkomponente eine genügende Ausbildung der Karies im kurzzeitigen Versuch erwarten ließ. Aus diesen Gründen ist es auch unglaublich, von der Amylasewirkung bei dieser Futterzusammensetzung eine kariesprophylaktische Wirkung erwarten zu wollen, da eine kariogene Eigenschaft von Glykogen oder Stärke bei diesem Zuckerüberschuß überhaupt nicht ins Gewicht fällt. Im Versuch sind praktisch also beide Zahnpasten als völlig gleichwertig anzusehen. Aus diesem Grunde darf auch zwischen diesen Pasten keine signifikante Differenz auftreten. (Wie im statistischen Teil ausgeführt werden wird, konnten zwischen diesen

beiden im doppelten Blindversuch getesteten Pasten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Kariesverhinderung festgestellt werden.)

Um zu prüfen, ob die in der Paste verwendete Pankreasamylase ohne Beimengungen und Verunreinigungen von irgendwelchen zuckerspaltenden Fermenten ist, wurde in vitro eine Reaktionsprüfung der Amylase mit dem verwendeten Futter durchgeführt. Es konnten keine Umsetzungen durch die Amylase nachgewiesen werden. Damit ist nochmals gezeigt, daß die Pankreasamylase enthaltende Paste keine Wirkung auf das Kariesgeschehen haben konnte.

Durch die Tatsache, daß die Ergebnisse der beiden praktisch mit gleichen Pasten geputzten Gruppen annähernd gleich sind, sich aber signifikant gegen die anderen Gruppen abgrenzen lassen, ließt das positive Ergebnis dieses Versuches dar. Es konnte gezeigt werden, daß auch im kurzfristigen Tierversuch eine Zahnpaste eine prophylaktische Wirkung auf die Karies im Gegensatz zum Bürsten ohne jeglichen Zusatz hat.

Zur Gruppe, die mit Aqua destillata behandelt wurde, ist zu sagen, daß keine statistisch gesicherte Unterscheidung zur Kontrollgruppe festgestellt werden konnte. Dadurch, daß zum Putzen aber Aqua destilata verwendet wurde, kann mit Sicherheit gesagt werden, daß keine eventuell zur Schmelzerhärtung

befähigten Salze bzw. Ionen zur Wirkung kamen, was bei Verwendung von gewöhnlichem Leitungswasser nicht behauptet werden könnte. Es kam also bei dieser Gruppe lediglich die Bürstwirkung zur Geltung. Somit muß gesagt werden, daß dieser Putzvorgang keine Vorteile brachte verglichen zur Kontrollgruppe. Beim Betrachten der Anzahl der Kariesläsionen läßt sich höchstens ein leichter Rückgang der Karies in der geputzten Gruppe im Gegensatz zur Kontrollgruppe erahnen. Weitere Schlüsse dürfen aus diesem Zahlenvergleich dieser beiden Gruppen nicht gezogen werden. Betrachten wir die Art und Weise, mit der die Tiere gebürstet wurden, so kann vielleicht vermutet werden, daß möglicherweise ein anderer Effekt erzielt worden wäre, wenn es möglich gewesen wäre, dem Verlauf der Fissuren entsprechend zu bürsten. Im Versuch wurden die occlusalen Flächen in sagittaler Richtung gebürstet, während der Fissurenverlauf von buccal nach lingual angeordnet ist (Siehe Abb. 5).

Durch die schäumenden Substanzen konnten die Putzkörper der Paste besser in den Prädilektionsstellen im Fundus der Fissuren zur Wirkung gebracht werden, während die Bürste allein den - wie bereits berichtet - sehr engen und schmalen Fundus nicht oder nur kaum erfassen konnte.

- 2 -

Der Versuch zeigt also deutlich, daß durch die kombinierte Wirkung von Zahnpaste und Bürste es möglich ist, bei entsprechender Versuchsanordnung Substanzen in Pasten auf ihre Wirkung an den Kariesprädispositionsstellen im Fissurenfundus zu prüfen. Ohne Wirkung der Bürste wäre es wiederum zweifelhaft, ob die Paste voll zur Geltung käme, deswegen wird hier die Kombination von Bürste und Paste besonders betont und hervorgehoben.

Wie die Ergebnisse zeigen, kann bei einem nach dieser Methode durchgeführten Versuch zur Prüfung einer kariesprophylaktischen Substanz auf die Vergleichsgruppe, die mit Aqua destillata behandelt wurde, verzichtet werden, da die Resultate dieser Gruppe sich von denen der Kontrollgruppe nicht signifikant unterscheiden. Diese Gruppe belastet unnötig den Versuch durch den Zeitaufwand, der nötig ist, um eine ganze Gruppe mit der Bürste zu putzen. Deswegen kann diese Gruppe ohne weiteres durch die Kontrollgruppe ersetzt werden, wie es die Ergebnisse auch zeigen. Es ist nur wichtig, daß, wie es auch hier im Versuch durchgeführt wurde, auch den Tieren dieser Gruppe täglich zwei Stunden das Futter entzogen wird, denn nur so ist eine genaue Vergleichsmöglichkeit gegeben, weil dann die Versuchsbedingungen für alle Tiere gleich sind.

VII. Ergebnisse

1. Zahlenmäßige Erfassung der Kariesläsionen

Wie schon berichtet, wurden die Kariesläsionen je nach der Schwere in die Grade A, B_I, B₂ und C eingeteilt. Für jede Fissur des I. unteren Molaren (M_I) wurde der Kariesbefall festgestellt und dem jeweiligen Grad zugeordnet. Bei den 2. unteren Molaren wurde die Karies in der mesialliegenden Fissur nicht diagnostiziert, da diese Fissur oftmals nicht genügend ausgebildet ist. Für diese beiden Molaren wurden die Kariesgrade der untersuchten Fissuren beider Kieferseiten auf der Lochkarte des jeweiligen Tieres schematisch an der entsprechenden Fissur eingetragen (siehe Abbildung 6).

Den einzelnen Graden wurden nun Ziffern von 1 - 4 zugeordnet. Der leichte Grad A erhielt die Ziffer 1, B_I erhielt 2, B₂ erhielt 3 und C die Ziffer 4.

Es wurde nun für jede Gruppe eine Tabelle angefertigt, in der vorgekommene Kariesgrade der betreffenden Fissuren durch die jeweils dem Kariesgrad entsprechende Ziffer ersetzt wurden. Aus diesen Tabellen (1-4) kann nun für jedes Tier der entsprechenden Gruppe die Summe der in die Ziffern übersetzten Kariesgrade ermittelt werden, ebenso läßt sich die Summe in den einzelnen Fissuren der gesamten Gruppe ansehen, ebenso die Summe der einzelnen Molaren oder aller Zähne auf einer

1. bzw. 2. Molar., F_1 , F_2 bzw. F_3 bedeutet die 1., 2. bzw. die 3. Fissur des entsprechenden Molaren. S bedeutet die jeweilige Summe, der Kariesläsionen bei einem Molar, einer Kieferseite oder beider Seiten zusammen. Aus dieser Tabelle können also sowohl für jedes einzelne Tier, wie auch für die gesamte Gruppe sämtliche Daten einzeln oder summarisch festgestellt werden. Alle Werte, die für die weitere statistische Auswertung benötigt werden, werden aus dieser Tabelle abgeleitet. Aus diesen Tabellen ist weiterhin ersichtlich, daß auf beiden Kieferseiten die Läsionsgröße sowohl in ihrer Gesamtsumme, wie auch bei den einzelnen Fissuren annähernd gleich ist. Beim Vergleich dieser Tabellen unter sich kann schon eine grobe Beurteilung über die vorhandenen Kariesläsionen gegeben werden. Entsprechend den Gruppen 1 - 4 gelten die Tabellennummern 1 - 4.

Tabelle 1

Tier-Nr.	Gruppe I												Summe ¹⁾ K.r + K.l				
	Kiefer rechts						Kiefer links										
	M ₂			M ₁			M ₁			M ₂							
	F ₂	F ₁	SM ₂	F ₃	F ₂	F ₁	SM ₁	S.K.r	F ₁	F ₂	F ₃	SM ₁		F ₁	F ₂	SM ₂	S.K.l
21	1	3	4	1	3	2	6	10	3	4	1	8	3	1	4	12	22
22	-	3	3	1	3	3	7	10	-	3	1	4	3	1	4	8	18
23	1	3	4	1	2	3	6	10	3	2	1	6	3	1	4	10	20
24	-	2	2	-	2	1	3	5	3	3	1	7	2	-	2	9	14
25	-	3	3	-	3	2	5	8	4	3	-	7	4	1	5	12	20
26	2	3	5	1	3	3	7	12	3	3	1	7	3	1	4	11	23
27	1	3	4	1	3	3	7	11	3	4	1	8	3	1	4	12	23
28	-	2	2	3	4	1	8	10	3	3	1	7	3	-	3	10	20
29	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	-	6	3	1	4	10	21
30	-	3	3	-	3	3	6	9	3	3	1	7	3	1	4	11	20
31	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	-	6	3	1	4	10	21
32	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	-	6	4	1	5	11	22
33	1	3	4	1	4	3	8	12	3	3	-	6	3	1	4	10	22
34	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	1	4	11	22
35	1	3	4	1	4	3	8	12	3	3	1	7	3	1	4	11	23
36	-	4	4	1	3	3	7	11	2	3	-	5	3	-	3	8	19
37	-	3	3	1	3	3	7	10	3	3	1	7	3	1	4	11	21
38	1	3	4	1	3	3	7	11	3	4	2	9	3	1	4	13	24
39	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	-	6	3	1	4	10	21
40	1	3	4	2	3	3	8	12	3	3	-	6	3	1	4	10	22
Summe	14	59	73	20	61	54	135	208	57	62	13	132	61	17	78	210	418
Mittelwert $\bar{x}$ = 20,9 (d. Läsionszahlen für beide Kieferseiten pro Tier)																	
Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ = 0,49																	

1) Summe entspricht der Läsionsschwere bzw. Läsionszahl beider Kieferseiten eines Tieres

Tabelle 2

- 44 -

Tier-Nr.	Gruppe II															Summe F ₁ +F ₂	
	Kiefer rechts								Kiefer links								
	M ₂			M ₁				S.K.r	M ₁			S.K.l	M ₂				
	F ₂	F ₁	S ₂	F ₃	F ₂	F ₁	SM ₁		F ₁	F ₂	F ₃		SM ₁	F ₁	F ₂		SM ₂
41	1	3	4	1	3	2	6	10	3	4	1	8	3	1	4	12	22
42	1	3	4	1	3	2	6	10	2	3	1	6	3	1	4	10	20
43	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	1	4	11	22
44	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	1	4	11	22
45	1	3	4	1	3	3	7	11	2	3	1	6	3	1	4	10	21
46	-	3	3	1	2	3	6	9	3	2	1	6	2	-	2	3	17
47	3	3	6	1	3	3	7	13	3	3	1	7	3	1	4	11	24
48	1	3	4	2	3	3	8	12	3	3	1	7	3	1	4	11	23
49	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	1	4	11	22
50	2	3	5	2	4	3	9	14	3	4	2	9	3	2	5	14	28
51	1	3	4	-	3	3	6	10	3	3	1	7	3	-	3	10	20
52	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	2	8	3	-	3	11	22
53	-	3	3	1	3	3	7	10	3	3	1	7	3	1	4	11	21
54	-	3	3	2	3	3	8	11	3	4	2	9	3	1	4	13	24
55	-	3	3	1	3	3	7	10	2	3	1	6	2	-	2	8	18
56	1	3	4	1		3	7	11	3	2	1	6	3	1	4	10	21
57	1	3	4	2	3	3	8	12	3	3	2	8	3	2	5	13	25
58	2	3	5	1	3	3	7	12	3	3	1	7	3	1	4	11	23
59	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	-	3	10	21
60	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	2	8	3	2	5	13	24
Summe	20	50	80	23	53	52	141	221	57	61	25	143	58	28	76	219	440
Mittelwert $\bar{x}$ = 22,0 (d.h. Läsionszahlen für beide Kieferseiten pro Tier)																	
Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ = 0,54																	

1) Summe entspricht der Läsionsschwere bzw. Läsionszahl beider Kieferseiten eines Tieres

Tabelle 3

Tier-Nr.	Gruppe III											Summe ¹⁾ K.r+K.l					
	Kiefer rechts						Kiefer links										
	M ₂		M ₁		S.K.r	M ₁		M ₂		S.K.l							
	F ₂	F ₁ SM ₂	F ₃	F ₂		F ₁ SM ₁	F ₁	F ₂	F ₃ SM ₁		F ₁		F ₂ SM ₂				
81	1	3	4	1	4	3	8	12	3	4	1	8	3	1	4	12	24
82	2	3	5	1	3	3	7	12	3	3	2	8	3	2	5	13	25
83	1	3	4	2	4	3	9	13	3	4	2	9	3	1	4	13	26
84	1	3	4	2	4	3	9	13	2	3	1	6	3	1	4	10	23
85	-	3	3	1	3	2	6	9	2	3	2	7	3	-	3	10	19
86	2	3	5	1	3	3	7	12	3	4	2	9	3	2	5	14	26
87	1	3	4	2	3	4	9	13	3	4	2	9	3	2	5	14	27
88	2	3	5	2	3	3	8	13	3	3	1	7	3	2	5	12	25
89	2	3	5	2	3	4	9	14	3	3	1	7	3	1	4	11	25
90	1	3	4	2	4	3	9	13	3	4	2	9	3	2	5	14	27
91	1	3	4	2	3	3	8	12	4	3	1	8	3	1	4	12	24
92	2	3	5	2	3	3	8	13	3	3	1	7	3	1	4	11	24
93	1	3	4	2	3	3	8	12	3	3	2	8	4	1	5	13	25
94	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	1	4	11	22
95	1	3	4	2	3	3	8	12	3	3	2	8	3	2	5	13	25
96	1	3	4	3	3	3	9	13	3	3	2	8	3	2	5	13	26
97	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	2	5	12	23
98	2	3	5	2	3	2	7	12	2	3	1	6	3	1	4	10	22
99	2	3	5	2	3	3	8	13	3	3	2	8	4	1	5	13	26
100	1	3	4	1	3	3	7	11	3	2	1	6	3	-	3	9	20
Summe	26	60	86	34	64	60	158	244	58	64	30	152	62	26	88	240	484
Mittelwert $\bar{x}$ = 24,2 (d. Läsionszahlen für beide Kieferseiten pro Tier)																	
Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ = 0,48																	

1) Summe entspricht der Läsionsschwere bzw. Läsionszahl beider Kieferseiten eines Tieres

Tabelle 4

Tier-Nr.	Gruppe IV											Summe F ₁ +F ₂ · 1	
	Kiefer rechts						Kiefer links						
	M ₂			M ₁			M ₁			M ₂			
	F ₂	F ₁	SM ₂	F ₂	F ₁	SM ₁	S.K.1	F ₁	F ₂	F ₃	SM ₂		S.K.1
121	1	3	4	1	3	3	7	1	3	3	7	1	25
122	1	4	5	2	4	3	9	2	4	2	8	2	27
123	1	3	4	2	3	3	8	1	3	2	7	1	25
124	1	3	4	1	3	3	7	1	3	3	7	1	25
125	2	3	5	2	3	3	8	1	3	2	7	1	25
126	2	3	5	2	3	3	8	1	3	2	8	1	26
127	1	3	4	1	3	3	7	1	3	2	8	1	25
128	2	4	5	2	4	2	8	1	4	2	10	1	28
129	2	3	5	1	3	2	6	1	3	2	8	1	24
130	2	3	5	2	3	3	8	1	3	1	6	1	24
131	1	3	4	2	3	2	7	1	3	3	7	1	23
132	2	3	5	2	3	3	8	1	4	4	2	10	27
133	2	3	5	2	3	2	7	1	2	3	2	7	24
134	2	3	5	1	3	3	7	1	3	3	2	8	25
135	2	3	5	1	3	3	7	1	3	3	1	7	24
136	2	3	5	1	3	2	6	1	3	3	2	8	23
137	2	3	5	2	3	3	8	1	3	4	1	8	26
138	2	3	5	2	3	3	8	1	3	3	2	8	25
139	1	3	4	2	3	3	8	1	4	4	2	10	27
140	1	3	4	1	3	3	7	1	3	3	2	8	23
Summe	52	52	94	52	52	55	143	52	52	34	152	52	490

Mittelwert $\bar{X} = 24,8$ (d. Läsionszahlen für beide Kieferseiten pro Tier)

Standardabweichung des Mittelwertes $s_{\bar{X}} = 0,36$

1) Summe entspricht der Läsionsachse bzw. Läsionszahl beider Kieferseiten eines Tieres

2. Zur mathematisch- statistischen Auswertungsmethode

Da die verschiedenen Putzmethoden an jeweils anderen Tieren durchgeführt wurden, liegen also unverbundene Stichproben der Kariesuntersuchung vor. Zur Prüfung als Signifikanztest, ob und in welchem Ausmass zwischen den einzelnen Gruppen Differenzen im Kariesbefall auftraten, wurde der "Rangtest" nach Wilcoxon (S. Koller, 1955 und E. Mittenecker, 1963) für unverbundene Stichproben jeweils zwischen zwei Gruppen durchgeführt.

In diesem Test werden die Unterschiede zwischen Mass- bzw Rangplatz-Werten behandelt. Die Masszahlen werden ihrer absoluten Grösse nach in eine Rangreihe gebracht. Diesen Masszahlen werden, von 1 beginnend, Rangnummern zugeteilt. Bei mehreren Masszahlen, die denselben Wert haben, wird gleichmässig an sie der Mittelwert ihrer Anordnungszahl gegeben. Bei Vergebung der Anordnungszahl ist es gleichgültig, in welcher der beiden Gruppen die Masszahl steht. Aus den Rangnummern der Gruppe mit kleinerer Fallzahl wird die Summe gebildet. Sie erhält den Index 1. Da hier beide Gruppen die gleiche Fallzahl haben, kann jede der Gruppen gewählt werden. Als Beispiel soll der Rangtest an der Gruppe II (2. Paste) und der Gruppe III (Aqua destillata) näher erläutert werden. (Test siehe Seite 52)

Die in Spalte (1) aufgeführten Werte stellendie Masszahlen des Kariesbefalles ("Läsionsschwere" oder "Läsionszahl") eines einzelnen Tieres dar (entnommen den Tabellen 2 und 3).Diese Werte werden für jede Gruppe nach ihrer natürlichen Reihenfolge aufgeführt. Der kleinste Wert erhält die Rangnummer (in Spalte 2) 1, der zweitkleinste die Rangnummer 2, der drittkleinste die Rangnummer 3 usw. Bei den folgenden Masszahlen mit gleichem Wert werden die Mittelwerte der Rangnummern zugeteilt.

Das Wesen der weiteren statistischen Prüfung kann man sich folgendermassen veranschaulichen:

Entnimmt man einer Reihe von 40 Rangnummern (20 in der Reihe 1 und 20 in der Reihe 2) sehr oft 20 Rangnummern, und bildet die Summe der zufällig entnommenen Nummern, dann würden, kombinatorisch bedingt, bestimmte Rangnummern oft, andere selten und wieder andere sehr selten auftreten. Man prüft nun, ob die vorliegende Rangsumme einer Gruppe zu den selten auftretenden Summen gehört.

Wenn dies der Fall ist, wird die Hypothese zufälliger (0-Hypothese) abgelehnt. Als "selten" bezeichnen wir hier das Auftreten in höchstens 1 % einer grossen Zahl von Versuchen. 1 % ist damit die sog. Irrtumswahrscheinlichkeit (α), d.h. in höchstens 1 % verwerfen wir die

Zufallshypothese, obwohl sie zutrifft.

Manche Autoren begnügen sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %, um eine Hypothese zu verwerfen. Ein Ergebnis, welches die Verwerfung einer Hypothese gestattet, nennt man signifikant.

Mit Hilfe einer Tabelle des Wilkoxontestes werden die Werte auf Signifikanz geprüft (J. Geigy, 1960). Aus den Tabellen 5 - 9 sind die Testsamts Ergebnis im Einzelnen zu ersehen.

Tabelle 5 "Rangtest" nach Wilkoxon

Gruppe I (1.Paste)			Gruppe II (2.Paste)	
Fall-Nr.	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)
1	14	1,0	17	2,0
2	18	3,5	18	3,5
3	19	5,0	20	8,5
4	20	8,5	20	8,5
5	20	8,5	21	15,5
6	20	8,5	21	15,5
7	20	8,5	21	15,5
8	21	15,5	21	15,5
9	21	15,5	22	24,5
10	21	15,5	22	24,5
11	21	15,5	22	24,5
12	22	24,5	22	24,5
13	22	24,5	22	24,5
14	22	24,5	23	32,0
15	22	24,5	23	32,0
16	22	24,5	24	36,5
17	23	32,0	24	36,5
18	23	32,0	24	36,5
19	23	32,0	25	39,0
20	24	36,5	28	40,0
Rang-summe		360,5	459,5	
P ≥ 10 % nicht gesichert				

Tabelle 6 "Rangtest" nach Wilkoxon

Gruppe I (1.Paste)			Gruppe III (Aqua dest.)	
Fall-Nr.	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)
1	14	1,0	19	3,5
2	18	2,0	20	7,0
3	19	3,5	22	17,0
4	20	7,0	22	17,0
5	20	7,0	23	23,0
6	20	7,0	23	23,0
7	20	7,0	24	27,5
8	21	10,0	24	27,5
9	21	11,0	24	27,5
10	21	12,0	25	30,0
11	21	13,0	25	31,0
12	22	17,0	25	32,0
13	22	17,0	25	33,0
14	22	17,0	25	34,0
15	22	17,0	26	35,0
16	22	17,0	26	36,0
17	23	23,0	26	37,0
18	23	23,0	26	38,0
19	23	23,0	27	39,0
20	24	27,5	27	40,0
Rang-summe		262,0	558,0	
P ≤ 1 % gesichert				

Tabelle 7 "Rangtest" nach Wilkoxon

Gruppe II (2.Paste)			Gruppe III (Aqua destil.)	
Fall-Nr.	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)
1	17	1,0	19	3,0
2	18	2,0	20	5,0
3	20	5,0	22	14,0
4	20	5,0	22	14,0
5	21	7,0	23	19,5
6	21	8,0	23	19,5
7	21	9,0	24	24,5
8	21	10,0	24	24,5
9	22	14,0	24	24,5
10	22	14,0	25	30,5
11	22	14,0	25	30,5
12	22	14,0	25	30,5
13	22	14,0	25	30,5
14	23	19,5	25	30,5
15	23	19,5	26	34,0
16	24	24,5	26	35,0
17	24	24,5	26	36,0
18	24	24,5	26	37,0
19	25	30,5	27	38,0
20	28	40,0	27	39,0
Rang-summe		300,0	520,0	
P. ≤ 1 % gesichert				

Tabelle 8 "Rangtest" nach Wilkoxon

Gruppe II (2.Paste)			Gruppe IV (Kontrolle)	
Fall-Nr.	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)
1	17	1,0	22	11,5
2	18	2,0	23	17,5
3	20	3,0	23	17,5
4	20	4,0	23	17,5
5	21	5,0	23	17,5
6	21	6,0	24	24,0
7	21	7,0	24	24,0
8	21	8,0	24	24,0
9	22	11,5	24	24,0
10	22	11,5	25	30,5
11	22	11,5	25	30,5
12	22	11,5	25	30,5
13	22	11,5	25	30,5
14	23	17,5	25	30,5
15	23	17,5	26	34,0
16	24	24,0	26	35,0
17	24	24,0	27	36,0
18	24	24,0	27	37,0
19	25	30,5	27	38,0
20	28	39,5	28	39,5
Rang-summe		270,5	549,5	
P ≤ 1 % gesichert				

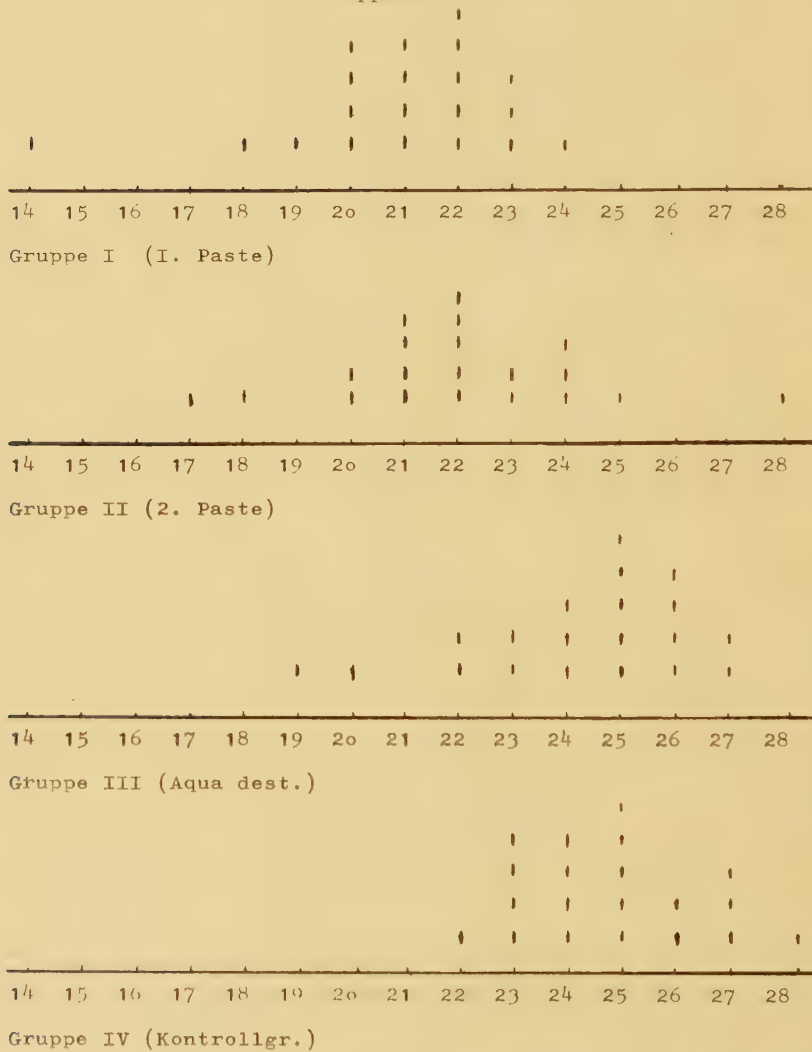
Tabelle 9 "Rangtest" nach Wilkoxon

Gruppe III (Aqua dest.)			Gruppe IV (Kontrolle)	
Fall-Nr.	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)	Läsions-schwere (1)	Rang-Nr. (2)
1	19	1,0	22	4,0
2	20	2,0	23	8,5
3	22	4,0	23	8,5
4	22	4,0	23	8,5
5	23	8,5	23	8,5
6	23	8,5	24	15,0
7	24	15,0	24	15,0
8	24	15,0	24	15,0
9	24	15,0	24	15,0
10	25	23,5	25	23,5
11	25	23,5	25	23,5
12	25	23,5	25	23,5
13	25	23,5	25	23,5
14	25	23,5	25	23,5
15	26	31,5	26	31,5
16	26	31,5	26	31,5
17	26	31,5	27	37,0
18	26	31,5	27	37,0
19	27	37,0	27	37,0
20	27	37,0	28	40,0
Rang-summe		390,5	429,5	
P $\geq$ 10 % nicht gesichert				

3. Graphische Darstellung des Kariesbefalles der einzelnen Gruppen.

Figur I gibt einen darstellenden Überblick über den Kariesbefall der einzelnen Gruppen. Die Ziffern 14 - 28 bedeuten die Messzahlen für die Karies eines Tieres. Die Striche in jeder Gruppe bedeuten ein Tier. Jedes Tier ist dort aufgezeichnet, wohin es seiner Messzahl ("Lesionsschwere") nach gehört. Bei Tieren mit gleicher Messzahl wurden die Striche übereinander gezeichnet. Der Unterschied im Kariesbefall zwischen den beiden Pastengruppen (I und II) und den Gruppen III und IV ist zu erkennen.

Figur I. Vergleichende Gegenüberstellung
der Gruppen I - IV



4. Standardabweichung des Mittelwertes

Unter Streuung (P. Hofstätter, 1953) verstehen wir ein Mass zur Kennzeichnung der Lagerung der Einzelwerte um einen Durchschnitt. Da aber der hierzu errechnete Mittelwert unscharf ist, wird meistens die Varianz oder die Standardabweichung des Mittelwertes angegeben. (G. Kuschinsky, 1964). Unter Varianz verstehen wir die Summe der Abweichungsquadrate geteilt durch die Anzahl der Messungen minus 1.

$$\text{Varianz} = s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \quad (\text{I})$$

Die Standardabweichung des Mittelwertes ist:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (\text{II})$$

In der Formel (II) der Standardabweichung des Mittelwertes wird s ersetzt durch s aus der Gleichung (I). Somit lautet die Formel zur Berechnung der Standardabweichung des Mittelwertes:

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1) \cdot n}}$$

Für jede Gruppe wurde nach dieser Formel die Standardabweichung des Mittelwertes berechnet.

(Siehe bei Tabellen 1 - 4)

Es bedeutet hierbei:

x_i = Läsionszahl pro Rattenunterkiefer (Summe der Kariesläsion eines Tieres)

$\bar{x}$ = Mittelwert der Läsionszahl pro Rattenunterkiefer

n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

VIII. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Methode des Zähneputzes an Jungratten gezeigt, die als Grundlagenversuch zu weiteren Experimenten dienen soll. Es sollte die Möglichkeit aufgezeigt werden, im kurzfristigen Versuch an Kleintieren eine Methode des Putzens zu erproben, die als ähnlich der Mundtoilette des Menschen angesehen werden kann. Dazu mußte die mechanisch reinigende Wirkung einer Bürste und zusätzlich die Wirkung der in der Paste enthaltenen Putzkörpern ausgenützt werden. Es ist klar, daß dieser Putzmethode viele Mängel anhaften, die zum Teil in weiteren aufbauenden Versuchen ausgeschaltet werden können, zum Teil aber auch kaum zu beseitigen sind. Es ist nicht möglich, die Mundverhältnisse des Menschen auf das Maul der Ratte zu übertragen. Die Rattenmolaren konnten lediglich occlusal mit der Bürste erfaßt werden. Weiterhin ist zu bedenken, daß der Fissurenverlauf der Rattenmolaren in buccolingualer Richtung verläuft, es war aber nur möglich, in sagittaler Richtung zu bürsten. Deshalb konnten die tiefen Fissuren nur schlecht oder gar nicht von der gleitenden Bürste erfaßt werden.

Der signifikante Unterschied der beiden Pastengruppen zu den übrigen Gruppen ist aber beweisend genug, daß ein durch das Bürsten eintretender Effekt die Putzkörper so in die Fissuren verteilt und einwirken läßt, daß eine Karieshemmung eintritt. Die Annahme, daß ein bloßes Auftragen der Paste wohl kaum zu diesem Ergebnis geführt hätte, ist berechtigt, da die Wirkung der Putzkörper dann nicht zur Anwendung gekommen wäre.

Der Versuch, gleichzeitig eine Wirkstoffpaste mitzutesten, mußte aus den angeführten Gründen allerdings aufgegeben werden. Da bezüglich der Pasten der Versuch als doppelter Blindversuch geplant und durchgeführt wurde, konnte die Abhängigkeit der Enzymaktivität vom Futter, das in diesem Falle dem Substrat gleichzusetzen ist, nicht berücksichtigt werden. Allgemein sei aber darauf hingewiesen, daß es durchaus möglich ist, auch hierzu eine zufriedenstellende Versuchsanordnung zu planen und durchzuführen.

Diese Methode kann uns jedenfalls die Richtung für die Wirkungsweise eines neu zu prüfenden Mittels geben und wir sind in der Lage, daraus wichtige Schlüsse zu ziehen. Durch die kurze Versuchsdauer ist weiterhin die Möglichkeit gegeben, in verhältnismäßig kurzer Zeit eine große

Anzahl von Versuchen durchzuführen, was bei monatelang dauernden Versuchen nicht der Fall ist. Allerdings muß bei der hier gezeigten Methode in Kauf genommen werden, daß das Herstellen der Auswertungspräparate viel Mühe und verhältnismäßig viel Zeit erfordern. Über die eventuelle kariesprophylaktische Wirkung der Amylase kann aus den angeführten Gründen keine Aussage gemacht werden. K. W. Zilz (1965) konnte jedenfalls zeigen, daß bei Benützung einer Enzympaste sich die weichen Beläge der Mundhöhle in stärkerem Maße beseitigen lassen als bei Benutzung einer der üblichen Handelspasten. Es ist also anzunehmen, daß bei entsprechender Rattendiät die Ergebnisse der I. Gruppe im Sinne einer Kariesprophylaxe günstiger ausgefallen wären, da die Beseitigung der weichen Beläge als Kariesprophylaxe anzusehen ist.

IX. Zusammenfassung

An Hand eines kurzfristigen Tierversuches wird eine Möglichkeit des Zähneputzens bei Ratten dargelegt.

Nach einer Beschreibung über die Besonderheiten der Rattenmolaren wurde auf die Notwendigkeit der Standardisierung der Versuchsbedingungen hingewiesen, wie sie besonders im kurzfristigen Tierversuch berücksichtigt werden muss. Nach der genauen Beschreibung der Bürste und des Putzvorganges wird die mikroskopische Auswertungsmethode an Hand der anrefertigten Schliffpräparate aufgezeigt.

Nach Abgrenzung der Versuchsergebnisse nach einer mathematisch-statistischen Methode kann die zustande gekommene Putzwirkung bei den Pastengruppen gezeigt werden, verglichen mit den beiden anderen Gruppen. Es zeigten sich zwischen den Pastengruppen gegenüber jeder der beiden anderen Gruppen signifikante Unterschiede ($P \leq 1\%$)

Ein Unterschied zwischen der Gruppe, die mit Aqua destillata geputzt wurde, zu einer Kontrollgruppe, die nicht behandelt wurde, liess sich nicht feststellen, so dass also durch das Putzen ohne Pastenzusätze keine Wirkung eingetreten war. An Hand der signifikanten Unterschiede der beiden Pastengruppen zu den beiden restlichen Gruppen kann aber die weitere Verwendbarkeit dieses als

Grundlagenexperimentes dienenden Putzver-
suches gezeigt werden.

X. Literaturangaben

Bibby, B.G. und Davies, G.N.

The Effect of Sugar in Various
Forms on the Rate of Spread of
Occlusal Caries in the Lower Molars
of Rats

J. Dent. Res. 37, 570 - 580 (1958)

Bramstedt, F. und Naujoks, R.

Biochemische Kariesforschung an der
Universitätsklinik für Zahn-, Mund-
und Kieferkrankheiten in Hamburg seit
1949

Dtsch. zahnärztl. Z. 17, 867 - 880
(1962)

Büttner, W., Cremer, H.D. und Herrmann, M.

Ernährungsfaktoren bei Zahn- und
Knochenbildung

Dtsch. zahnärztl. Z. 11, 984 - 994
(1956)

Chernausek, D.S., Mitchell, D.F.

Ammoniated Dentifrices and Hamster
Caries

J. Dent. Res. 30, 393 - 398 (1951)

Mc. Clure, F.J. und Folk, I.E.

Skim Milk Powders and Experimental
Rat Caries

Procl. Soz. Exp. Biol. Med. 83, 21 - 26
(1953)

Eggers - Lura, H.

Die Enzyme des Speichels und der
Zähne

München 1949, S. 55 - 67

- Geigy, J.R. Dokumenta Geigy, wissenschaftl.
Tabellen 6. Auflage, Basel 1960
S. 124 ff.
- Graumann, W. zit. nach Lipp, W.
Histochem. Methoden, Oldenburg und
Gratz (1954) Zsch. wiss. Mikrosk.
Stuttgart 61, 255 (1953)
- Gustafson, G. und Stelling, E.M.
Experimental Dental Caries in Animals
Odont. Takt. (Schweden) 60, 27 - 100
(1952)
- Hagemann, E.
Ratte und Maus, Versuchstier in der
Forschung
Berlin 1960
- Hofstätter, P.
Einführung in die quantitativen
Methoden der Psychologie
München 1953
S. 40 f.
- Handbuch der Lebensmittelchemie
Band III
Berlin 1936
S. 228
- Hürny, Th. Über die Interpretation karies-
statistischer Untersuchungsergebnisse
Schweiz. Mschr. Zahnk. 79, 142-147
(1964)
- Jakoby, B. und Leeson, C.R.
Mikropunktionsuntersuchungen an der
Glandula submaxillaris junger Ratten
J. Anat. London 93, 201
(1959)

- König, K.G. Tierexperimentelle Karies
Schweiz. Mschr. Zahnhlk. 71, 1050
(1961)
- König, K.G., Marthaler, Th. und Mühlemann, H.R.
Zur Planung und Auswertung tier-
experimenteller Kariesstudien
Schweiz. Mschr. Zahnhlk. 67, 755 - 776
(1957)
- König, K.G., Marthaler, Th. und Mühlemann, H.R.
Methodik der kurzfristig erzeugten
Rattenkaries
Dtsch. Zahn-, Mund- und Kieferheilk.
29, 99 - 127 (1958)
- König, K.G. und Mühlemann, H.R.
Caries Symposium Zürich
The Present Status of Caries Prevention
by Fluorine Containing Dentifrices
Bern 1961, S. 126 - 130
- Koller, S. Statistische Auswertung der Versuchs-
ergebnisse in : Hoppe - Seyler / Thier-
felder : Handbuch der physiologisch-
und pathologisch - chemischen Analyse
Bern 1955, S. 972 f.
- Kuschinsky G. und Lüllmann, H.
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie
1. Auflage, Stuttgart 1964 S. 267 und
S.260
- Lazansky, J.P.
The Effect on Hamster Caries of
Toothbrushing with Various
Chemicals.
J. Dent. Res. 26, 446 (1947)

Lehnartz, E.

Einführung in die chemische Physiologie 11. Auflage Berlin, Göttingen, Heidelberg 1959
S. 280 ff. und S. 304

Leimgruber, Ch.

Carie dentaire
Franz. Stomat. 11, 1 - 10 (1964)

Leonhardt, H.

Klinische Studien über den Einfluß von Zahnpasten d. Zähneputzen
Zahnärztl. Welt/Reform 62, 546-552
(1961)

Losee, F.L. und Nemmes, I.L.

Human Type Caries Distribution in Osborne-Mendel-Rats Kept on Heated Skim Milk Powder Diet
Prol. Soc. Exper. Biol. Med. 87,
429 - 431 (1954)

Mittenecker, E.

Planung und statistische Auswertung von Experimenten
4. Auflage, Wien 1963
S. 31 ff. und S. 166 f.

Rozeik, F.

Haltung der Osborne-Mendel-Ratte in der Kariesforschung
München Gräfling 1961
S. 34

Wannenmacher, E.

Lernbuch der klinischen Zahnheilkunde
Band II, 3. Auflage,
Leipzig 1903
S. 488 und S. 524

Weihe W. H. Die Umwelt der Versuchstiere und
ihre Standardisierung im biologischen
Test Bern 1964

Zilz, K. W. Experimentelle und klinische Unter-
suchungen über Zahnsteinhemmende Sub-
stanzen

Med. Inaug. Diss. Mainz 1964

Herrn Professor Dr. Dr. P. Riethe möchte
ich an dieser Stelle für die Überlassung
des Themas und für die allzeit gewährte Unter-
stützung herzlich danken.

Herrn Professor Dr. Dr. S. Koller und
Dr. H.J. Lange vom Institut für Med. Statistik
und Dokumentation danke ich für die stets
freundliche Hilfe bei der Auswertung des
mathematisch-statistischen Teiles.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. W. Zilz
für die immer freundliche Unterstützung.

L e b e n s l a u f

Ich bin am 10. Mai 1941 in Sigmaringen geboren als Sohn des Landesverwaltungsrates Josef Mühlebach und seine Ehefrau Marianne geb. Alber. Im Herbst 1948 bin ich in die kath. Bekenntnisschule Sigmaringen eingetreten. Seit 29. April 1952 besuchte ich das Staatl. Gymnasium in Sigmaringen. Am 14. März 1961 legte ich dort die Reifeprüfung ab. Im Sommersemester 1961 ließ ich mich als Studierender der Zahnheilkunde an der Universität Mainz immatrikulieren. Im Sommersemester 1963 bestand ich hier die zahnärztliche Vorprüfung. Am 29. Juli 1966 habe ich das zahnmedizinische Staatsexamen abgelegt.

